

## Radioimmunoassayによる十二指腸粘膜内セクレチンに関する実験的研究

著者	三浦 義邦
号	926
発行年	1976
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/19199">http://hdl.handle.net/10097/19199</a>

氏 名（本籍）                      み              うら              じ              くに  
三              浦              義              邦

学 位 の 種 類                      医              学              博              士

学 位 記 番 号                      医              第              9 2 6              号

学位授与年月日                      昭 和 5 1 年 2 月 2 0 日

学位授与の要件                      学位規則第 5 条第 2 項該当

最 終 学 歴                      昭 和 4 3 年 3 月 2 日  
福島県立医科大学卒業

学位論文題目                      Radioimmunoassay による十二指腸粘膜内セクレチンに関する実験的研究

（主 査）

論文審査委員 教授 山 形 徹 一 教授 吉 永 馨

教授 斎 藤 達 雄

## 論文内容要旨

セクレチンの定量法に関してはこれまでBioassayが行われてきたが、近年Radioimmunoassayの発展によりセクレチンについても確立されつつある。私は天然セクレチン、抗セクレチン血清および $^{125}\text{I}$ -セクレチンを入手し、セクレチンのRadioimmunoassayについて基礎的な検討を加えると共に、実験動物にイヌを用いて、粘膜内セクレチン含量の測定法について検討し、消化管粘膜および隣接臓器内セクレチン含量の測定を行い、更に十二指腸腔内を塩酸、アミノ酸、脂肪酸、塩化ナトリウム、果糖、蔗糖溶液で灌流した場合の十二指腸粘膜内セクレチン含量の変動を測定し、セクレチンの放出機序について検討を加えた。

## 実験方法

抗原としてのセクレチン、抗セクレチン血清はエーザイ株式会社の橘真郎博士が作製したものをを用いた。セクレチンの標識はクロラミン-T法の変法によった。Radioimmunoassay系の設定は、1%ウシ血清アルブミンを含む0.1 M Borate-borax buffer (pH 8.0) 0.7 ml, 既知濃度の標準セクレチンあるいはサンプル0.1 ml, 抗セクレチン血清0.1 mlを4℃下に48時間 incubate し、その後 $^{125}\text{I}$ -6-tyrosyl-secretin 0.1 mlを加えて、4℃下に更に24時間 incubate した。結合セクレチンと遊離セクレチンの分離はdextran-coated charcoal法を用いた。抗血清濃度1000倍希釈にて15~250 ng/mlの範囲で測定可能な標準曲線が得られた。次に粘膜抽出に関して抽出液のpHの影響、トラジロールの効果、超音波使用の影響、煮沸の効果について検討した。粘膜抽出方法は、粘膜剥離後ただちに湿重量を測定し、トラジロールを加えてナイフにて細切し、pH 3.0になるようにpH 1.5 acetate HCl bufferと1 N HClにて調整した。更にテフロンhomogenizerにて粉碎し、最後に超音波をかけて処理した。続いて3分間煮沸浴を行った後1000回転、15分間遠沈して得られた上清を検体とした。粘膜内含量は粘膜1 mg湿重量当りの単位で表わした。以上の手法を用いて、雑種成犬の胃、十二指腸（球部、ファーター乳頭の口側、同じく肛門側、下部）、空腸上部、回腸末端部、結腸の一部、肝、脾、脾を摘出し、粘膜内および臓器内セクレチン含量を測定し、消化管および臓器別のセクレチン分布について検討した。更にイヌを用いて、まず幽門部を結紮、次に十二指腸下部を結紮し、その口側に2本のカテーテルを挿入し、一方からpH 1.5, 4.0, 5.0, 6.0の0.1 M acetate HCl buffer, 5%フルクトース, 40%サッカロース, 9% NaCl, 0.05 M オレイン酸ナトリウム, トリプトファンとフェニールアラニンを含む8.5%アミノ酸混合溶液などの灌流液を注入し、他方は流出用とした。コントロールとしてpH 8.0, 0.1 M glycine buffer を注入し

て灌流させ、10分後に幽門とファーター乳頭部の間の幽門寄りの一部をコッヘルで挟んで切り取った後、コッヘルをそのままにして、次に各種溶液の一つを同様に10分間灌流させ、別のコッヘルで前に切り取った部分に隣接する肛門側の一部を挟んで切り取った。

## 実 験 成 績

粘膜内セクレチンはpH 1.5のbufferで抽出した場合に最も高値を示し、pHが大きくなるにつれて漸減する傾向を認めた。また煮沸を行った方が明らかに良い結果が得られた。トラジロールを加えて処理した場合は、超音波使用のいかんにかかわらず高い活性を検出し、しかも超音波を用いない方がより良く抽出された。消化管と肝、脾、脾内のセクレチン分布をみると、十二指腸球部から十二指腸下部粘膜だけにセクレチンが検出され、その他の粘膜及び臓器内には含まれていなかった。十二指腸内の分布ではいずれも極端な差は認められなかった。各種溶液による十二指腸腔内灌流の十二指腸粘膜内セクレチン含量へ及ぼす影響をみると、pH 1.5のacetate HCl bufferで灌流した場合は、コントロールのpH 8.0のglycine bufferで灌流した時の粘膜内含量と比較して、明らかに減少していることが認められたが、pH 4.0, 5.0, 6.0のbufferで灌流した場合は著明な差は認められなかった。また、5%フルクトース、40%サッカロース、9%NaCl, 0.05 Mオレイン酸ナトリウム、8.5%アミノ酸混合溶液での灌流の影響についても、その前後における粘膜内セクレチン含量に著明な差は認められなかった。

## 結 論

私はdextran-coated charcoal法によりセクレチンのRadioimmunoassayを試み、基礎的検討を加えると共に、十二指腸粘膜内セクレチン含量を測定し、次の結論を得た。1) 粘膜抽出のpHは1.5が最も安定で、煮沸およびトラジロールを加えることにより、また超音波は使用しない方が良い結果を得た。2) セクレチンは十二指腸粘膜内だけに認められ、他の消化管および隣接臓器からは検出できなかった。なお、十二指腸内の分布については、著明な差は認められなかった。3) pH 1.5の塩酸溶液で十二指腸腔を灌流すると、十二指腸粘膜内セクレチン含量はコントロールと比較して明らかに減少した。4) pH 4.0, 5.0, 6.0の各塩酸溶液で灌流した場合は、コントロールと比較して著明な差はみられず、セクレチン放出の閾値を示すような結果は得られなかった。5) 等張の5%フルクトース、高張の40%サッカロース、9%NaCl, 0.05 Mオレイン酸ナトリウム、8.5%アミノ酸混合溶液による灌流に伴う粘膜内セクレチン含量の変動には有意の差を認めなかった。

## 審 査 結 果 の 要 旨

Radioimmunoassayによる十二指腸粘膜内セクレチンに関する実験的研究

著者は天然セクレチン、抗セクレチン血清、 $^{125}\text{I}$ -標識セクレチンを入手し、dextran-coated charcoal法によりセクレチンのRadioimmunoassayを試み、抗血清濃度1000倍希釈にて15～250 ng/mlの範囲で測定可能な標準曲線が得られたので、十二指腸粘膜内セクレチン含量の測定を行い、粘膜抽出に関して抽出液のpHの影響、トラジロールの効果、超音波使用の影響、煮沸の効果等の基礎的な検討を加えると共に、実験動物にイヌを用いて、消化管粘膜および隣接臓器内セクレチン含量の測定を行い、その分布について検討し、さらに十二指腸腔内を塩酸はじめ各種溶液で灌流した場合の十二指腸粘膜内セクレチン含量の変動を測定し、セクレチンの放出機序について検討を加え、次の結論を得た。

- 1) 粘膜抽出液のpHは1.5が最も安定で、煮沸およびトラジロールを加えることにより、また超音波は使用しない方が良い結果を得た。
- 2) セクレチンは十二指腸粘膜内だけに認められ、他の消化管および隣接臓器からは検出できなかった。なお、十二指腸内の分布については、著明な差は認められなかった。
- 3) pH 1.5の塩酸溶液で十二指腸腔を灌流すると、十二指腸粘膜内セクレチン含量はコントロールと比較して明らかに減少した。
- 4) pH 4.0, 5.0, 6.0の各塩酸溶液で灌流した場合は、コントロールと比較して著明な差はみられず、セクレチン放出の閾値を示すような結果は得られなかった。
- 5) 等張の5%フルクトース、高張の40%サッカロース、9%NaCl、0.05Mオレイン酸ナトリウム、8.5%アミノ酸混合溶液による灌流に伴う粘膜内セクレチン含量の変動には有意の差を認めなかった。

上記の論文内容は学位を授与するに値するものと認める。